

## **Pengaruh Berbagai Temperatur *Thawing* Semen Beku Terhadap Keberhasilan Inseminasi Buatan Pada Sapi Potong**

### **The Effect of Various Thawing Temperatures of Frozen Semen on the Success of Artificial Insemination of Beef Cattle**

**Ida Arlita Wulandari<sup>1</sup>, Surya Agus Prihatno<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Program Studi Bioteknologi, Universitas Gadjah Mada

<sup>2</sup>Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada

Email: idaarlitawulandari@gmail.com

#### **Abstract**

The study about the effect of various thawing temperatures frozen semen on the success of artificial insemination of beef cattle had been conducted in Residency of Sleman Territory of Yogyakarta. The study used 59 heifers and cows that were oestrus (without oestrus stimulation) with body condition score (BCS) of 3 and 1,5-8 years age. They were inseminated using frozen semen of *Simmental* thawed in temperature of 37°C, 35°C (warm water) and 28-30°C (cold water). Effect of thawing temperatures was evaluated by non returnrate (NR). NR of thawing temperatures of 37°C, 35°C and 28-30°C were 63,16%, 55%, and 45%, respectively Thawing temperature of 37°C increased the non returnrate compared to the thawing temperatures of 35°C and 28-30°C. Statistical analysis by Chi-square showed there were no significant differences between thawing temperatures of 37°C, 35°C and 28-30°C on the success of artificial insemination

**Key words:** beef cattle, artificial insemination, thawing, non returnrate, frozen semen,

#### **Abstrak**

Penelitian pengaruh berbagai temperatur *thawing* semen beku terhadap keberhasilan inseminasi buatan telah dilakukan di Kabupaten Sleman Daerah Istimewa Yogyakarta. Penelitian dilakukan dengan menggunakan 59 ekor sapi betina estrus (tanpa stimulasi birahi) dengan *body condition score* (BCS) 3 dan berumur antara 1,5-8 tahun yang mencakup sapi dara maupun sapi yang sudah pernah beranak. Sapi-sapi tersebut diinseminasi menggunakan semen beku dari sapi *Simmental* yang terlebih dahulu di *thawing* pada berbagai temperatur yaitu 37°C, 35°C (air hangat) dan 28-30°C (air dingin). Keberhasilan inseminasi buatan dapat dievaluasi melalui nilai *non returnrate* (NR). Nilai *non returnrate* (NR) yang diperoleh pada temperatur *thawing* 37°C, 35°C dan 28-30°C berturut-turut adalah 63,16%, 55%, dan 45%. *Thawing* pada temperatur 37°C dapat meningkatkan nilai NR dibandingkan *thawing* pada temperatur 35°C dan 28-30°C. Analisis statistik dengan *Chi-Square* menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan antara temperatur *thawing* 37°C, 35°C dan 28-30°C dengan keberhasilan inseminasi buatan

**Kata kunci:** sapi potong, inseminasi buatan, *thawing*, *non returnrate* (NR), semen beku

## Pendahuluan

Keberhasilan IB tergantung pada kemampuan fertilisasi spermatozoa, penanganan semen sebelum inseminasi, waktu inseminasi dan deposisi semen yang tepat (Foote, 1969). Teknik inseminasi yang umum dilakukan yaitu inseminasi dalam vagina, servik, dan teknik rektovaginal (Salisbury dan vanDemark, 1985). Inseminasi pada waktu yang tepat sangat penting dalam keberhasilan konsepsi. 60% sapi memiliki panjang siklus birahi 17-25 hari dan sisanya memiliki siklus yang lebih panjang atau lebih pendek (Salisbury and vanDemark, 1985). Pelaksanaan IB dilakukan pada saat ternak dalam kondisi birahi (estrus), karena pada saat itu servik pada posisi terbuka. Waktu optimum dan inseminasi selama dan sesudah estrus adalah dari pertengahan estrus sampai 6 jam sesudah puncak birahi (Salisbury and vanDemark, 1985). Angka fertilisasi pada awal birahi adalah 44% dan pada pertengahan birahi 82,5%, sedangkan pada akhir birahi 75% dan semakin menurun sejalan dengan bertambahnya waktu birahi (McDonald, 1971; Abeygunawardena, 1999; Junaidi, 2000).

Semen beku dalam *straw* telah digunakan pada inseminasi di Indonesia pada sapi perah dan sapi potong sejak tahun 1974 (Toelihere, 1993). Keuntungan penggunaan semen beku antara lain memperluas kemungkinan perkawinan dengan pejantan unggul, semen dari pejantan unggul baik yang sehat, cacat, pincang, atau tua dapat digunakan sepanjang tahun. Kerugian penggunaan semen beku adalah biaya produksi yang tinggi dan berpotensi menyebarkan penyakit venereal (Toelihere, 1993). Spermatozoa dalam semen beku sangat mudah terganggu oleh perubahan lingkungan, untuk itu

perlu ditambahkan larutan pengawet yang menjamin kebutuhan fisik dan kimianya sehingga aktifitas fungsional spermatozoa tetap terjaga selama proses penyimpanan hingga akan digunakan (Yatim, 1982).

Semen beku harus disimpan dalam temperatur dan kondisi tertentu untuk mempertahankan spermatozoa agar tetap hidup. Perubahan temperatur lingkungan akan mempengaruhi daya hidup spermatozoa, temperatur terlalu tinggi atau terlalu rendah akan merusak pertumbuhan dan kemampuan spermatozoa untuk membuahi (Yatim, 1982). Penyimpanan semen beku dalam nitrogen cair  $-196^{\circ}\text{C}$  lebih baik dibanding pada *dry ice* dengan temperatur  $-79^{\circ}\text{C}$  karena pada temperatur  $-79^{\circ}\text{C}$  terjadi perubahan pada sperma dan terbentuknya kristal elektrolit (Cupps *et al*, 1969; Toelihere, 1993).

Semen beku dicairkan kembali (*thawing*) sebelum digunakan. Sesudah pencairan kembali, semen beku tidak dapat tahan lama seperti semen cair (Toelihere, 1993). Semen sebaiknya digunakan segera setelah *thawing* untuk memperoleh efisiensi reproduksi yang maksimal (Morrow, 1987). Peningkatan temperatur saat *thawing* harus meningkat secara konstan sampai waktu inseminasi (Toelihere, 1993). Teknik *thawing* yang tepat akan menjaga aktifitas biologis dan kualitas spermatozoa (Jondet, 1972). *Thawing* membuat spermatozoa kembali hidup dan kembali ke temperatur tubuh sehingga *thawing* harus dilakukan secara hati-hati untuk menghindari kerusakan spermatozoa (Bearden *et al.*, 2004). Penelitian mengenai temperatur *thawing* semen beku telah banyak dilakukan di berbagai negara terhadap viabilitas spermatozoa setelah *thawing* (Robbins *et al*, 1976;

Pace *et al.*, 1981; Dharmi and Sahni, 1993). Penelitian mengenai pengaruh berbagai temperatur *thawing* semen beku terhadap keberhasilan IB belum pernah dilakukan.

Ukuran terakhir yang pasti mengenai keberhasilan inseminasi hanyalah kelahiran anak yang sehat. Penentuan kebijakan dalam IB akan terlampaui lambat apabila menunggu sampai terjadinya kelahiran, apalagi bila tidak terjadi kebuntingan (Salisbury dan vanDemark, 1984; Toelihere, 1993). Informasi yang cepat dapat diperoleh dengan menggunakan teknik-teknik penentuan fertilitas yang dapat memberikan gambaran umum untuk penilaian pelaksanaan IB. Informasi ini digunakan sebagai dasar penentuan kebijakan selanjutnya. Evaluasi hasil inseminasi dilakukan melalui berbagai cara, yaitu *non returnrate* (NR), *conception rate* (CR), *servis per conception* (S/C) dan *calving rate* (CR). *Non returnrate* (NR) merupakan persentase hewan yang tidak kembali minta kawin atau tidak ada permintaan IB lebih lanjut dalam waktu 28–35 hari atau 60–90 hari. Di Amerika Serikat, nilai NR pada 60–90 hari mencapai rata-rata 65–72% (Roberts, 1971; Toelihere, 1993). NR merupakan teknik tercepat dan mudah untuk menentukan keberhasilan IB. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh berbagai temperatur *thawing* semen beku terhadap keberhasilan inseminasi buatan pada sapi potong yang diukur dengan angka NR.

## Materi dan Metode

### Hewan dan semen beku

Hewan penelitian yang digunakan adalah 59 ekor sapi potong betina berusia 1,5 sampai 8 tahun

yang sedang mengalami birahi (estrus) secara alami tanpa induksi birahi. Sapi betina dalam kondisi sehat dengan BCS 3 mempunyai saluran reproduksi normal, meliputi sapi dara dan sapi yang sudah pernah beranak. Semen beku yang digunakan berasal dari semen sapi *Simmental* dalam kemasan *straw* 0,25 ml. Bahan yang digunakan untuk *thawing* adalah air hangat bertemperatur 37°C, 35°C dan air dingin bertemperatur 28–30°C.

### Inseminasi buatan (IB)

Pelaksanaan IB dilakukan oleh inseminator terlatih dan bersertifikat. Sapi betina yang akan diinseminasi terlebih dulu *direstrain* untuk memudahkan penanganan. Semen beku yang akan digunakan *dithawing* dan dimasukkan dalam pipet inseminasi. Teknik inseminasi yang dilakukan adalah teknik rektovaginal. Tangan kiri yang telah bersarung plastik dan dilubrikasi dimasukkan ke dalam rektum untuk mengeluarkan feses dan memfiksir servik. Vulva dan bibir vulva dibersihkan kemudian tangan kanan memasukkan pipet inseminasi kedalam vagina sampai pada servik yang telah difiksir melalui rektum.

### Pencairan kembali (*thawing*)

Sebanyak 59 buah *straw* semen beku dari sapi *Simmental* dibagi menjadi 3 kelompok. Kelompok pertama terdiri dari 19 buah *straw* yang *dithawing* pada air hangat bertemperatur 37°C, kelompok kedua terdiri dari 20 buah *straw* yang *dithawing* pada air hangat bertemperatur 35°C, sedangkan kelompok ketiga terdiri dari 20 buah *straw* yang *dithawing* pada air dingin bertemperatur 28–30°C. *Straw* *dithawing* dengan memasukkan ke dalam gelas berisi air dengan temperatur yang sudah ditentukan.

*Straw* dimasukkan dengan posisi sumbat pabrik di bagian bawah sampai seluruh bagian *straw* terendam selama 5–7 detik.

### Pencatatan hasil inseminasi

Pencatatan hasil inseminasi dilakukan pada 28–35 hari sesudah IB. Sapi-sapi yang kembali birahi dan diinseminasi kembali dicatat untuk penghitungan nilai NR. Penilaian NR tergantung pada asumsi bahwa sapi-sapi yang tidak kembali birahi adalah bunting (Toelihere, 1973). Nilai NR dihitung menggunakan rumus :

$$NR (\%) = \frac{\text{Jumlah sapi yang di IB} - \text{jumlah sapi yang kembali di IB}}{\text{jumlah sapi yang di IB}} \times 100\%$$

### Parameter Uji

Parameter yang diuji adalah angka NR (*non returnrate*) setelah inseminasi. Sapi-sapi yang tidak kembali diinseminasi diasumsikan bunting. Data yang diperoleh diolah dengan metode statistik *chi-square* (Santoso, 1999).

### Hasil dan Pembahasan

Hasil pengamatan berupa perbandingan antara *thawing* pada temperatur 37°C, 35°C, dan 28–30°C terhadap angka *non returnrate*(NR) dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai NR pada temperatur *thawing* 37°C,

	<i>Thawing</i> pada temperatur 37°C	<i>Thawing</i> pada temperatur 35°C	<i>Thawing</i> pada temperatur 28–30°C
Jumlah Sapi yang di-IB (ekor)	19	20	20
Jumlah Sapi yang tidak kembali di-IB (ekor)	12	11	9
Jumlah Sapi yang kembali di-IB (ekor)	7	9	11
Nilai NR (%)	63,16	55	45

35°C, dan 28–30°C

Berdasarkan Tabel 1, dapat diketahui bahwa *thawing* pada temperatur 37°C menghasilkan angka NR yang lebih besar dibandingkan *thawing* pada temperatur 35°C dan 28–30°C. Nilai NR pada temperatur 37°C, 35°C dan 28–30°C adalah 63,16%, 55% dan 45%. Menurut Prihatno (2000), nilai NR setelah IB pada sapi fertil adalah 60–85%. Beberapa peneliti menyatakan bahwa pada temperatur diatas 35°C menghasilkan motilitas sperma yang lebih baik (Al-Badry, 2012). Salisbury *et al.* (1978) melaporkan, bahwa *thawing* harus dilakukan dengan cepat untuk mencegah rekristalisasi es dalam sel yang mengakibatkan kerusakan membran. Temperatur merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi daya tahan hidup spermatozoa. Daya tahan hidup kemungkinan mempengaruhi nilai NR. Menurut Evans dan Maxwell (1987), temperatur 37,5°C akan meningkatkan metabolisme spermatozoa, menguras cadangan energinya dan memperpendek umur spermatozoa, sebaliknya pada temperatur 37°C berguna untuk mencegah *cold shock* dan motilitas spermatozoa pada sapi akan meningkat pada temperatur 37°C (Toelihere, 1979; Toelihere, 1993). *Cold shock* merupakan suatu keadaan dimana spermatozoa akan kehilangan daya hidupnya yang tidak dapat dipulihkan kembali (Toelihere, 1979). Dalam kondisi anaerob pada temperatur 37°C spermatozoa tetap tinggal dan motil selama 9 jam di dalam lendir servikovaginal, 7 jam di dalam cairan *uterus* dan 12 jam di dalam *tuba fallopi* (Salisbury and vanDemark, 1984). Witorsa (2001) mengatakan bahwa *thawing* dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu dengan air ledeng/sumur selama ± 30 detik dan air hangat (37°C) selama ± 15 detik, sedangkan Zenichiro *et al.* (2002) mengatakan

bahwa *thawing* dilakukan pada temperatur 37–38°C selama 7 detik. *Thawing* pada temperatur 37°C dapat membantu semen untuk melewati masa kritisnya dengan cepat (Laing, 1970; Amin, 1999) karena pada temperatur 37°C ini hampir sama dengan temperatur tubuh hewan dan simulasi lingkungan *in vivo* (Evans and Maxwell, 1987). Pada pusat IB di Ungaran Jawa Tengah, *thawing* terhadap semen beku dalam *straw* dengan air kran dikatakan memberi hasil yang memuaskan dibanding *thawing* memakai air es walaupun tidak diberitahukan berapa lama jeda waktu antara *thawing* dengan inseminasi (Toelihere, 1993).

Gordon (2002) menyebutkan bahwa persentase motilitas dan viabilitas spermatozoa tertinggi adalah pada *post-thawing* 30–37°C selama 30 detik. Pace *et al.* (1981) dan Nur *et al.* (2006) menyatakan bahwa *straw* semen sapi yang *dithawing* pada temperatur 37°C menghasilkan fertilitas yang lebih tinggi dibandingkan pada temperatur 10°C atau air es.

Analisis statistik dengan *chi-square* menunjukkan bahwa nilai NR yang diperoleh pada temperatur *thawing* 37°C, 35°C dan 28–30°C tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan untuk keberhasilan IB.

#### Daftar Pustaka

- Abeygunawardena, H. (1999) Reproduction and Obstetrics in Farm Animal. Department of Veterinary Clinical Studies, University of Paradeniya. Page 3–6, 16.
- Amin, M.R., Toelihere MR., Yusuf, T.L dan Situmorang, P. (1999) Pengaruh Plasma Semen Sapi terhadap Kualitas Semen Beku Kerbau Lumpur (Bubalus bubalis). *J. Ilmu Ternak dan Veteriner* 3: 145.
- Bearden, H. J., Fuquay, F. and Willard, S.T. (2004) Applied Animal Reproduction, 6<sup>th</sup> edition, Pearson Prentice Hallm, New Jersey, USA.
- Cupps, P. T., anderson, L. L. and Cole, H. H., (1969) The Oestrus Cycle, in H. H Cole and P.T Cupps: Reproduction in Domestic Animal, Second Edition, Academic Press, New York, Page : 332.
- Dhami, A.J .and Sahni, K..L. (1993) Evaluation of Different Cooling Rates, Equilibration Periods and Diluents for Effects on deep-Freezing, Enzyme Leakage and Fertility of Taurine Bull Spermatozoa. *Theriogenology* 40: 1269–1280.
- Evans, G. and Maxwell, W. M. C. (1987) Salomon's Artificial Insemination of Sheep and Goat, Butterworth, Sidney, Australia. Page: 22, 27, 49, 131, 135, 171–172.
- Foote, R. H. (1969) Physiological Aspect of Artificial Insemination, in H. H Cole and P. T Cupps : Reproduction in Domestic Animal, 2<sup>nd</sup> Edition, Academic Press, New York, USA. Page : 342, 345.
- Gordon, I. (2002) Controlled Reproduction in Cattle and Buffaloes, CABI Publishing, Wallingford, UK.
- Junaidi, A. (2000) Deteksi estrus dan Inseminasi, Dalam : Kursus Penyegaran Mengenai Reproduksi Pada Sapi Bagi Dokter Hewan Praktisi, Bagian Reproduksi dan Kebidanan, FKH UGM, Yogyakarta.
- Laing, (1970) Fertility and Infertility in Domestic Animals, 3<sup>rd</sup> edition, Bailliere Tindall & Cassel, London, United Kingdom.
- McDonald, L. E. and Pineda, M. H. (1971) *Veterinary Endocrinology and Reproduction*, 4th edition, Lea and Febiger, Philadelphia.
- Morrow, D. A. (1980) Current Therapy and Theriogenology : Diagnosis, Treatment and Prevention of Reproductive Disease in Animals, WB Saunders Company, Philadelphia, USA.

- Nur, Z. and Illeri, I.K. (2003) Effect of Different Temperature Treatments Applied to Deep Stored Bull Semen on Post-Thaw Cold Shocked Spermatozoa. *Bull. Vet. Inst. Pulawg.*, 50: 79-83.
- Pace, M. M., Sullivan, J.J., Elliot, F. I., Graham, E. F. and Coulter, G. H. (1981) Effect of Thawing Temperature, Number of Spermatozoa and Spermatozoa Quality on Fertility of Bovine Spermatozoa Packaged in 5 ml French Straw. *J. Anim. Sci.* 35:253.
- Prihatno, S. A. (2000) Infertilitas an Sterilitas Dalam: Kursus Penyegaran Mengenai Reproduksi Sapi Bagi Dokter Hewan Praktisi, Bagian Reproduksi dan Kebidanan, FKH UGM, Yogyakarta.
- Robbins, P. K., Saacke, R. H. and Chandler, P. T. (1976) Influence of Freeze Rate, Thaw Rate and Glycerol Level on Acrosomal Retention and Survival of Bovine Spermatozoa Frozen on French Straw. *J. Anim. Sci.* 42: 145-154.
- Salisbury, G. W. and VanDemark, N. L. (1985) Physiology of Reproduction and artificial Insemination in Cattle, terjemahan : Djanuar R, Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Toelihere, M. R. (1979) Fisiologi Reproduksi pada Ternak, Penerbit Angkasa, Bandung.
- Toelihere, M. R. (1993) Inseminasi Buatan pada Ternak, Penerbit Angkasa, Bandung.
- Witarsa, A. (2001) Evaluasi Semen Dalam : Pelatihan Petugas Teknis Desentralisasi BIB Lembang, Ditjen Bina Produksi Peternakan, Jawa Barat.
- Yatim, W. (1982) Reproduksi dan Embriologi, Penerbit Tarsito, Bandung.
- Zenichiro, K., Herliantien and Sarastina, (2002) Instruksi Praktis, Teknologi Prosesing Semen Beku Pada Sapi, JICA-BIB Singosari, Malang, Jawa Timur.